Darstellung des Anthrakaseimmunproteïdin

und dessen immunisierende

Wirkung gegen Milzbrand.

Inaugural-Dissertation

von

Josef Thönnessen,
appr. Arzt.

Jena,
Gustav Fischer
1902.

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41552325_0101

Darstellung des Anthrakaseimmunproteïdin

und dessen immunisierende

Wirkung gegen Milzbrand.

Inaugural-Dissertation

von

Josef Thönnessen,

appr. Arzt.

ACAD.
LAND.BAT.
BERL

Jena,

Gustav Fischer

1902.

Gedruckt mit Genehmigung der medizinischen Fakultät der Universität München.

Referent: Herr Professor Dr. H. Buchner.

Gegen Ende des Jahres 1899 veröffentlichten Prof. Dr. Emmerich und Prof. Dr. Löw[1]) zum ersten Male ihre geistvolle Theorie über die Abhängigkeit der erworbenen Immunität von bakteriolytischen Enzymen, hierbei ausgehend von der Beobachtung, daß gewisse Bakterien, z. B. der Bac. pyocyaneus, in Flüssigkeitskulturen aufgelöst werden, sobald sich das bakteriolytische Enzym, die Pyocyanase, in größerer Menge in den Kulturen angehäuft hat. Eine feste experimentelle Grundlage schufen sie daneben einerseits durch ihre ausgedehnten Untersuchungen über die auflösende Wirkung des Pyocyaneus-Enzyms auf Milzbrand-, Typhus-, Diphtherie-, Pestbacillen u. s. w., andererseits durch Versuche über die heilende Wirkung der Pyocyanase bei Milzbrand resp. die immunisierende Wirkung des Pyocyanaseimmunproteïdins gegen Milzbrand und Diphtherie. Ohne Zweifel sind diese Ausführungen gerade für den Neuling auf bakteriologischem Gebiete, der sich beim Studium der Immunitätsfrage zum ersten Mal in dem Labyrinthe von Hypothesen, Theorieen und Gegentheorieen verirrt hat, gerade wegen ihrer Klarheit und Einfachheit höchst anziehend und plausibel. So ergriff auch ich mit Freuden die Gelegenheit, unter Leitung von Herrn Prof. Emmerich einen kleinen Beitrag zur weiteren, experimentellen Begründung der Enzymtheorie der Immunität zu liefern.

Da makroskopisch beobachtet werden konnte, daß auch in Flüssigkeitskulturen des Bacillus des Schweinerotlaufes im Laufe von Wochen und bei öfterem Schütteln ein völliges Verschwinden des am Boden der Kulturen liegenden Bakteriensedimentes eintritt und ähnliches, wenn auch nicht in gleicher Vollständigkeit, bei Milzbrand-, Cholerabacillen-Kulturen u. s. w. zu konstatieren war, so hielten Emmerich und Löw sich berechtigt, anzunehmen, daß wenigstens in den Flüssigkeitskulturen der Gelatine peptonisierenden pathogenen Bakterien ebenfalls bakteriolytische Enzyme gebildet werden. Um für die Richtigkeit dieser Annahme thatsächliche Beweise zu erbringen, suchte ich unter Leitung des Herrn Prof. Emmerich zunächst aus Flüssigkeitskulturen des Milzbrandbacillus das bakteriolytische Enzym zu gewinnen und dessen heilende Wirkung, sowie die immunisierende Fähigkeit der Eiweißverbindung dieses Enzyms zu untersuchen.

Gemäß der von beiden obengenannten Autoren inaugurierten Nomenklatur war dieses präsumptiv angenommene Enzym als Anthrakase zu bezeichnen resp. nach seiner Ueberführung in eine höhere stabilere Eiweißverbindung als Anthrakaseimmunproteïdin.

I. Darstellung des Anthrakaseimmunproteïdin.

Bezüglich der Darstellung des Anthrakaseimmunproteïdin kann ich mich hier auf die nötigsten Angaben beschränken, da erst vor kurzem

1) Zeitschr. f. Hyg. Bd. XXXI. p. 1—66.

eine eingehende und erschöpfende Abhandlung über dieses Verfahren von Emmerich und Löw[1]) erschienen ist.

Zunächst handelte es sich darum, zu ermitteln, welche Nährlösung die üppigste Entwickelung der Milzbrandbacillen ermöglicht. Die hierauf gerichteten Untersuchungen ergaben, daß bei folgender Zusammensetzung:

Aqu. destillat.	1000,0 ccm
Asparagin	2,0 g
Pepton sicc.	5,0 „
Dikaliumphosphat	2,0 „
Chlornatrium	2,0 „
Natrium bicarbonic.	1,0 „
Magnesiumsulfat	0,1 „

ein sehr üppiges Wachstum der Bakterien einsetzt mit wolkiger Trübung, auf welche bald eine starke Sedimentbildung folgt.

Das Dikaliumphosphat des Handels muß mit Kalilösung neutralisiert werden; das Magnesiumsulfat darf erst nach dem Sterilisieren und Erkalten zugesetzt werden. Späterhin hat es sich als zweckmäßig erwiesen, dieser Nährlösung noch Bouillon zuzusetzen, da hierdurch das Wachstum der Bakterien erheblich befördert wird.

Obige Nährlösung wurde in einer Menge von 8 l auf 10 große Glaskolben verteilt und in dieselbe eine, durch wiederholte Tierpassage hochvirulent gemachte Milzbrandbacillenkultur in großer Menge eingeimpft (auf jeden Kolben nahezu eine 24 Stunden alte Kultur auf schief erstarrtem Agar][2]). Die nächsten 3—4 Tage werden die Kolben bei 22° C, dann bei 37° C geführt. Während der ersten Wochen zeigt sich auf dem Grunde der Gefäße ein mächtiger Bodensatz in Form flockiger Massen, welche bei leichtem Schütteln langausgezogene zusammenhängende Fäden bilden. Nach 4 Wochen werden die Kolben herausgenommen, die obenstehende, fast klare Flüssigkeit vom zurückbleibenden Sedimente abgegossen, durch Berkefeld-Filter filtriert, im Vakuum auf etwa $^1/_{10}$ des Volumens eingedampft und gegen Leitungswasser dialysiert. Um nun die in konzentrierter Form erhaltene Anthrakase in das höher zusammengesetzte und haltbarere Anthrakase-immunproteïdin überzuführen, wurde frische zerkleinerte Schweinemilz (zu 1 l Flüssigkeit 30 g) und 0,3 Proz. kohlensaures Kali hinzugefügt. Schon in kurzer Zeit trat infolge beginnender Auflösung eine Zusammenballung und Verschleimung der einzelnen, feinen Milzpartikelchen zu einem einzigen, zähschleimigen Klumpen ein. Diese Erscheinung berechtigt nach den Erfahrungen von Emmerich und Löw zu der Annahme, daß reichliche Mengen proteolytischen Enzyms in Lösung sind. Das Anthrakaseimmunproteïdin stellte in seiner damaligen Form eine dunkelbraunrote Flüssigkeit dar, die, um Zersetzungen hintanzuhalten, noch mit 0,2 Proz. Trikresol versetzt und im Eisschrank aufbewahrt wurde.

II. Immunisierungsversuche gegen Milzbrand durch Anthrakase-immunproteïdin.

a) Immunisierung von Kaninchen.

29. April 1900. Zum ersten Immunisierungsversuch wurde Kaninchen I weiß (2560 g schwer) bestimmt. Dasselbe erhält

1) Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. Bd. XXXVI. p. 10—28.

2) Es ist wahrscheinlich, daß eine nicht oder nur wenig virulente Kultur ebenso gut oder noch besser zur Darstellung der Anthrakase ist.

2 ccm Anthrakaseimmunproteïdin
2. Mai 6 „ „
4. „ 10 „ „
6. „ 2 „ „ subkutan
und 4 „ „ intravenös

I. Versuch.

7. Mai. Kaninchen I und Kontrolltier (graubraun, 2433 g schwer) werden mit je 1 ccm Bouillonaufschwemmung einer hochvirulenten Milzbrandagarkultur subkutan infiziert.

9. Mai. Kontrolltier ist 41 Stunden nach der Infektion verendet. Sektion ergiebt sehr starkes, sulziges Oedem an der Injektionsstelle und an der Bauchhaut; Milz vergrößert, mit massenhaften Bacillen. Kaninchen I zeigt keine krankhaften Veränderungen, ist auch nach 4 Wochen völlig gesund.

Zu weiteren Versuchen werden 3 kräftige Kaninchen bestimmt:

Kaninchen II, braunrot, 4155 g schwer
„ III, weiß, 2300 „ „
„ IV, braun, 4000 „ „

Sämtliche Tiere erhalten am

8. Mai je 4 ccm Anthrakaseimmunproteïdin
11. „ „ 6 „ „
14. „ „ 7 „ „
16. „ „ 7 „ „

subkutan.

II. Versuch.

19. Mai. Kaninchen II und Kontrolltier (4030 g) werden mit je 1 ccm Bouillonaufschwemmung hochvirulenter Milzbrandkultur infiziert (Keimzahl 297 990). Kaninchen II erhält außerdem noch 2 ccm Anthrakaseimmunproteïdin subkutan und 2 ccm intravenös.

21. Mai. Kaninchen II ist munter und frißt gut. Kontrolltier verendet 43 Stunden nach der Infektion. Sektion ergiebt typischen Befund mit massenhaften Bacillen im Blute. Kaninchen II zeigt auch an den folgenden Tagen und Wochen keinerlei krankhafte Erscheinungen; dasselbe bleibt am Leben.

Die Injektionen von Anthrakaseimmunproteïdin übten niemals weder lokal auf die Impfstelle noch auf das Allgemeinbefinden der Tiere irgend eine üble Wirkung aus. Vielmehr nahmen die meisten Tiere während der Behandlung mit Anthrakaseimmunproteïdin an Gewicht zu und niemals zeigte sich an der Injektionsstelle eine entzündliche Infiltration oder gar Abceßbildung.

24. Mai. Kaninchen III und IV erhalten
je 8 ccm Anthrakaseimmunproteïdin
28. „ „ 8 „ „

subkutan.

III. Versuch.

31. Mai. Kaninchen III (2210 g) und Kontrolltier (2130 g) werden mit je 1 ccm Bouillonaufschwemmung einer virulenten Milzbrandkultur infiziert (Keimzahl 726 800).

1. Juni. Beide Tiere ruhig und ohne Freßlust.

2. Juni. Die Impfstelle ist bei dem Kontrolltier stark infiltriert, bei Kaninchen III ohne Infiltration.

Kontrolltier verendet abends, 52 Stunden nach der Infektion. Sektion ergiebt ein ungewöhnlich starkes Oedem, ausgedehnt über den ganzen Bauch und Brust; Darmwand injiziert; Milz vergrößert. Kaninchen III wird bald wieder munter und frißt gut. 8 Tage später wiegt es 2300 g, hat also trotz der schweren Infektion an Gewicht zugenommen. Auch in den nächsten Wochen sind keine krankhaften Erscheinungen sichtbar. Das Tier bleibt gesund (Beobachtungszeit 3 Monate).

9. Juni. Nachdem nur mehr Kaninchen IV zu Versuchszwecken zur Verfügung steht, werden 2 neue Tiere hinzugenommen.

Kaninchen V, graubraun (2620 g) und Kaninchen VI, braun (2730 g). Beide erhalten

je 1 ccm Anthrakaseimmunproteïdin
12. Juni „ 2 „ „
15. „ „ 4 „ „

subkutan.

IV. Versuch.

22. Juli, 4 Uhr nachmittags:
Kaninchen IV (4310 g)
„ V (3150 g)
„ VI (3060 g)
Kontrolltier (3350 g)

werden mit je 1 ccm Bouillonaufschwemmung hochvirulenten Milzbrandes (Sobernheim) infiziert. Die Kultur stammte aus Halle und hatte bei einem Probeversuch das Tier innerhalb 31 Stunden getötet. Außerdem erhält Kaninchen VI noch 4 ccm Anthrakaseimmunproteïdin subkutan.

23. Juni. Sämtliche Tiere zeigen sich noch wenig affiziert.

24. Juni. 6 Uhr abends verendet das Kontrolltier 50 Stunden nach der Infektion. Sektion ergiebt starkes Oedem der Impfstelle und Bauchhaut etc.

25. Juni. 8 Uhr morgens verendet Kaninchen V 64 Stunden nach der Infektion. Sektion zeigt ein nur auf die Impfstelle beschränktes Oedem.

26. Juni. Kaninchen IV und VI ebenfalls verendet während der Nacht. Bei der Sektion ist kein Oedem an der Impfstelle zu sehen; Milz wenig vergrößert; bei beiden ist blutig seröse Flüssigkeit in der Bauchhöhle.

Der negative Ausfall dieses Versuches kam trotz der günstigen Erfolge bei Versuch I, II und III nicht ganz unerwartet. Die Erklärung hierfür liegt ja sehr nahe.

Kaninchen I hatte 18 ccm Anthrakaseimmunproteïdin subkutan und 4 ccm Anthrakaseimmunproteïdin intravenös;

Kaninchen II hatte 21 ccm Anthrakaseimmunproteïdin subkutan und 2 ccm Anthrakaseimmunproteïdin intravenös;

Kaninchen III hatte 40 ccm Anthrakaseimmunproteïdin subkutan erhalten.

Kaninchen IV war zwar ebenfalls mit 40 ccm Anthrakaseimmunproteïdin subkutan behandelt worden, doch lag zwischen letzter Immunisierung und Infektion ein Zeitraum von 4 Wochen. Während dieser Zeit hatte das Tier auch noch 3 Junge geworfen und gesäugt.

Kaninchen V hatte nur 7 ccm Anthrakaseimmunproteïdin und Kaninchen VI 11 ccm Anthrakaseimmunproteïdin subkutan erhalten.

Aus dieser Zusammenstellung läßt sich also schon mit Wahrscheinlichkeit schließen, daß einerseits die Quantität des eingeführten Immunproteïdin, andererseits der Zeitpunkt der Immunisierung einen ganz gesetzmäßigen Einfluß auf das Ergebnis des Versuches haben. Diese Gesetzmäßigkeit in der Wirkung wurde unterdessen auch von anderer Seite an größeren Versuchsreihen bestätigt. Nebenbei bemerkt, überstand ein von Prof. Emmerich bei Versuch IV mitverwendetes Kaninchen, das zuvor mit Pyocyanase und Anthrakase behandelt worden war, die Infektion vollständig.

Von Interesse war bei diesem Versuche auch noch der mikroskopische Befund, welchen Blut und Milz von Kaninchen V bei der Färbung nach Nakanishi ergab. Bei dieser Methode findet weder eine thermische noch stärkere chemische Veränderung der Bacillen statt, vielmehr tritt uns der Bakterienkörper hierbei in seiner natürlichen Gestaltung entgegen. Herr Prof. Emmerich konstatierte dabei folgenden Befund: „Man sieht gequollene Stäbchen, die mehr als das doppelte Volumen des normalen haben; Stäbchen, welche an einem Ende gequollen erscheinen, am anderen nicht, so daß sie ein keulenförmiges Aussehen haben und wie angenagt aussehen. Die gequollenen Stäbchen zeichnen sich meist durch starken Lichtglanz aus; oft zeigen sie auch gekrümmte Formen, unregelmäßig oder wurstförmig. Die keulenförmigen Stäbchen zeigen Färbungen, ähnlich wie die Diphtheriebacillen; die beiden Enden sind meist mehr gefärbt. Außerdem sieht man kurze, unregelmäßige und sehr schwach gefärbte Stäbchenfragmente in Form kurzer Stäbchen, Ovalformen u. s. w. Solche in Fragmente zerfallene Stäbchen sehen wie zerbröckelt aus.“

Ausstrichpräparate von der Milz des Kaninchens V einerseits und vom Kontrolltier andererseits zeigten bei der Färbung mittels der nach

Czaplewski modifizierten Gram'schen Methode einen ganz augenfälligen Unterschied. Bei diesem Verfahren werden bekanntlich die lebenskräftigen Bacillen intensiv dunkelblau gefärbt, dagegen die toten oder im Absterben begriffenen hellrot. Bei Einstellung eines beliebigen Gesichtsfeldes ergab sich nun:

Milzbrandbacillen in einem Gesichtsfeld.

Kaninchen V		Kontrollkaninchen	
53 rot	5 blau	5 rot	50 blau
40 „	2 „	10 „	69 „
57 „	6 „	4 „	72 „
49 „	3 „	3 „	80 „
Mittel 50 rot	4 blau	5,5 rot	68 blau

Es läßt uns dieser Befund direkt einen Einblick thun in den im Tierkörper stattfindenden Kampf zwischen Bakterien und den vernichtenden Kräften des Blutes, d. h. dem im Blute gelösten bakteriolytischen Immunproteïdin. Während bei dem Kontrolltier auf 68 intakte Milzbrandbacillen nur 5 durch das Alexin des normalen Blutes abgetötete treffen, ist das Verhältnis beim immunisierten Kaninchen gerade umgekehrt. Die bakterienvernichtende Wirkung des Blutes erscheint hier ganz bedeutend verstärkt durch das künstlich in den Körper eingeführte Immunproteïdin.

Ein neues Versuchstier, Kaninchen VII, graubraun (2010 g), erhält:

11. Juli 4,0 ccm Anthrakaseimmunproteïdin
14. „ 7,5 „ „
16. „ 7,5 „ „
18. „ 5,0 „ „

subkutan injiziert.

V. Versuch.

24. Juli abends. Kaninchen VII (2120 g) und Kontrollkaninchen (2400 g) werden mit je 1 ccm Bouillonaufschwemmung einer Milzbrandkultur geimpft, die ein Kaninchen in 48 Stunden getötet hatte. (Keimzahl 590 450).

25. Juli. Beide Tiere fressen gut.

30. Juli. Beim Kontrolltier leichte Infiltration nachweisbar.

31. Juli. Kontrolltier ist während der Nacht verendet, also erst 7 Tage nach der Infektion. Sektion ergiebt mäßiges Oedem an der Impfstelle und geringe Mengen blutig-seröser Flüssigkeit in der Bauchhöhle; zahlreiche Bacillen im Blute. Das behandelte Kaninchen VII bleibt am Leben.

b) Immunisierung von Schafen.

Der nächste Versuch wird an Schafen angestellt.

Schaf I (2 Jahre alt, kräftig) wird am

27. Juni mit 15 ccm Anthrakaseimmunproteïdin
28. „ „ 70 „ „
30. „ „ 45 „ „
1. Juli „ 20 „ „

subkutan behandelt.

VI. Versuch.

Um den Versuch ganz objektiv auszuführen, wurde das immunisierte Schaf und ein gleichaltriges Kontrollschaf von gleichem Ernährungszustand Herrn Prof. Dr. Kitt an der tierärztlichen Hochschule überschickt, welcher beide Tiere am 2. Juli 11 Uhr vormittags mit je 1 ccm Bouillonaufschwemmung hochvirulenten Milzbrandes (3 Oesen Agarkultur auf 10 ccm Bouillon) durch subkutane Injektion infizierte. Ein Meerschweinchen erhielt 0,5 ccm derselben Mischung ebenfalls subkutan.

4. Juli. Kontrollschaf ist während der Nacht, etwa 40 Stunden nach der Infektion, verendet; das Meerschweinchen stirbt 10 Uhr vormittags, also 47 Stunden nach der Infektion.

Das schutzgeimpfte Schaf ist gesund und ohne Fieber.

Temperaturen (abends).

	1. Juli	2. Juli	3. Juli	4. Juli
Kontrollschaf	39,2	41,4	41,7	†
behandeltes Schaf I	39,6	39,5	39,7	39,3

Die an der tierärztlichen Hochschule vorgenommene Sektion des Kontrollschafes ergiebt typischen Milzbrandbefund; im Blute massenhaft Bacillen.

Schaf I, welches auf die schwere Infektion gar keine Krankheitserscheinungen zeigte, nimmt während der nächsten Wochen beträchtlich an Gewicht zu und bleibt auch späterhin ganz gesund.

Mit der gleichen Immunproteïdinlösung wird noch der folgende Versuch an zwei je $1^1/_2$ Jahre alten Schafen ausgeführt.

3. Sept. Schaf IV (schwarz) erhält 18 ccm Immunproteïdin, Schaf V (weiß) erhält 10 ccm Immunproteïdin.

VII. Versuch.

4. Sept. Schaf IV und V erhalten je 50 ccm Anthrakaseimmunproteïdin subkutan injiziert.

Um 2 Uhr nachmittags werden Schaf IV und V und ein Kontrollschaf mit je 1 ccm einer bei 24° C 24 Stunden lang gewachsenen Bouillonkultur subkutan am Hinterschenkel infiziert.

6. Sept. Kontrollschaf, schwer affiziert, frißt nicht mehr.

7. Sept. Kontrollschaf nachmittags dem Verenden nahe. Schaf V hat blutig gefärbten Ausfluß aus der Nase.

8. Sept. Kontrolltier ist nachts verendet. Bei Schaf V ist kein Blut mehr im reichlich abgesonderten Nasenschleim.

9. Sept. Die beiden schutzgeimpften Schafe sind anscheinend normal und fressen gut; bleiben auch weiterhin ohne krankhafte Erscheinungen.

	Temperaturen (abends).				
	5. Sept.	6. Sept.	7. Sept.	8. Sept.	9. Sept.
Kontrollschaf	41,8	41,9	—	†	—
Schaf IV	39,6	39,5	39,3	39,6	39,4
Schaf V	39,4	39,8	40,3	39,9	39,6

Nachdem eine neue Anthrakaseimmunproteïdinlösung gemäß dem oben angegebenen Verfahren hergestellt war, wurden folgende Versuche damit ausgeführt. Die Flüssigkeitskulturen waren statt bei 37° C bei 30° C geführt worden.

Schaf II und III erhalten am

3. Aug. je 24 ccm Anthrakaseimmunproteïdin
5. „ „ 50 „ „
7. „ „ 60 „ „
11. „ „ 50 „ „

subkutan.

Kaninchen VIII und IX erhalten am

3. Aug. je 3 ccm Anthrakaseimmunproteïdin
5. „ „ 7 „ „
7. „ „ 12 „ „
11. „ „ 10 „ „

subkutan.

VIII. Versuch.

11. Aug. 6 Uhr nachmittags. Schaf II, III und Kontrollschaf sowie Kaninchen VIII (2360 g), Kaninchen IX (2620 g) und Kontrollkaninchen (3200 g) werden mit je 1 ccm Bouillonaufschwemmung einer Agarmilzbrandkultur infiziert. Bei Kaninchen VIII blutet die Injektionsstelle ziemlich stark.

12. Aug. Die beiden Kontrolltiere fressen nicht mehr; die übrigen Tiere zeigen keine krankhaften Erscheinungen.

14. Aug. Das Kontrollkaninchen ist während der Nacht verendet, also 50—55 Stunden nach der Infektion. Sektion ergiebt starkes Oedem an der Bauchhaut; massenhaft Bacillen im Blute.

Vormittags 11 Uhr stirbt das Kontrollschaf. Leib stark aufgetrieben; aus Mund- und Nasenhöhle blutig-schleimiger Ausfluß; im Blute massenhaft Milzbrandbacillen.

15. Aug. Während der Nacht ist Kaninchen VIII verendet.

Zwischen 7 und 8 Uhr morgens verendet Schaf II.

Schaf III ist sehr unruhig; frißt nicht mehr; Kaninchen IX ohne krankhafte Erscheinungen.

16. Aug. Schaf III während der Nacht verendet. Blutproben von Schaf II und III lassen zahlreiche Milzbrandbacillen erkennen.

Kaninchen IX befindet sich wohl und frißt gut.

Temperaturen.

11. Aug. Infektion (abends)	Kontroll-schaf	Schaf II	Schaf III	Kontroll-kaninchen	Kaninchen VIII	Kaninchen IX
12. Aug. abends	40,0	—	39,1	38,6	38,4	—
13. „ morgens	41,0	38,9	38,6	40,6	38,6	38,3
13. „ abends	41,3	39,3	38,8	39,7	38,7	38,5
14. „ morgens	41,7	40,7	39,8	†	40,2	38,9
14. „ abends	†	41,5	40,2		39,3	38,9
15. „ morgens		†	40,9		†	38,5
15. „ abends			41,3			38,7
16. „ morgens			†			38,6

Der wider Erwarten ungünstige Ausgang dieses Versuches läßt sich, da doch verhältnismäßig große Mengen der Lösung injiziert waren (184 ccm für jedes Schaf, 32 ccm für jedes Kaninchen), nur auf einen sehr geringen Gehalt der Kulturflüssigkeit an Anthrakase zurückführen. Nur bei Kaninchen IX hatte die injizierte Menge von Immunproteïdin genügt, um das Tier gegen Krankheit und Tod zu schützen. Das genau ebenso vorbehandelte Kaninchen IX erlag der Infektion wahrscheinlich deshalb, weil die Kulturflüssigkeit in ein Blutgefäß injiziert wurde (starke Blutung bei der subkutanen Injektion).

Um bei weiteren Versuchen eine gewisse Sicherheit in der Dosierung des zu verwendenden Immunproteïdin zu gewinnen, wäre es demnach von größter Wichtigkeit, einen zuverlässigen Anhaltspunkt zu haben für den Gehalt der jeweils hergestellten Kulturflüssigkeit an bakteriolytischem Enzym. Einigermaßen kann derselbe bereits jetzt beurteilt werden aus der Beobachtung der baktericiden Wirkung der konzentrierten Enzymlösung in vitro. Diese Versuche müssen aber wahrscheinlich unter anaëroben Bedingungen ausgeführt werden, da nur dann und bei gleichzeitigem öfteren Schütteln eine baktericide Wirkung zu konstatieren sein dürfte. Durch die Fällung der Anthrakase oder des Immunproteïdin vermittelst Alkohol und Aether oder durch Ammoniumsulfat werden außer denselben auch noch andere in der Kultur befindliche Enzyme gefällt, so daß man hierdurch keinen Anhaltspunkt über die Quantität der in der Lösung befindlichen Anthrakase etc. erhält.

Eine andere Frage ist die, warum der Gehalt an Enzym der unter scheinbar gleichen Bedingungen gewonnenen Kulturflüssigkeit im einen Falle größer, im anderen geringer ist. Hierbei kommt zweifelsohne zunächst die Verschiedenheit der einzelnen Milzbrandbakterienrassen bezüglich ihrer Fähigkeit, bakteriolytisches Enzym zu bilden, in Betracht. Aber auch die verschiedene chemische Zusammensetzung der Nährlösung, die Intensität und Dauer der Entwickelung der Kultur, die Temperatur, bei welcher die letztere geführt wird, sowie vielleicht andere, noch nicht genau studierte Momente spielen hierbei eine Rolle. Sind einmal diese Einflüsse klar erkannt, so kann auch der Gehalt der Kulturflüssigkeit an bakteriolytischem Enzym im einzelnen Falle auf ein gewisses Maximum gesteigert und ein dementsprechend günstiges und konstantes Resaltat bei der Immunisierung erzielt werden, wie dies Prof. Emmerich bereits bei der Pyocyanase durch Feststellung der maßgebenden Bedingungen der Enzymanreicherung gelungen ist.

Fassen wir das Ergebnis aller vorhergehenden Versuche kurz zusammen, so läßt sich auf Grund derselben behaupten:

1) In keinem Falle war die immunisierende Wirkung bei Vorbehandlung mit Anthrakaseimmunproteïdin zu vermissen, wenn dieselbe auch bei ungünstigstem Ausgange nur eine Lebensverlängerung von etwa 15 Stunden gegenüber dem Kontrolltiere bedeutete.

2) Ausschlaggebend für den Erfolg ist die Quantität des eingeführten Anthrakaseimmunproteïdin; ist dieselbe genügend groß, so übersteht das Tier (Kaninchen oder Schaf) die gefährlichste Milzbrandinfektion ohne erhebliche Reaktion (Temperatursteigerung, Gewichtsverlust u. s. w.).

3) Von Belang ist auch die Zeitdifferenz zwischen Immunisierung und Infektion. Doch sind aus Obigem noch keine sicheren Schlüsse über die Immunitätsdauer zu ziehen.

4) Der Gehalt der einzelnen Kulturflüssigkeit an bakteriolytischem Enzym ist inkonstant infolge von Einflüssen, die zum Teil noch nicht bekannt sind. Es fehlt daher noch die Sicherheit in der Dosierung der zu injizierenden Flüssigkeit.

5) Durch die quantitative Bestimmung des Gehaltes an Immunproteïdin wird sich die zur Immunisierung notwendige Dosis desselben ermitteln lassen. Da aber solche Methoden noch nicht bekannt sind, so lassen sich einstweilen nur durch den anaëroben, baktericiden Versuch Anhaltspunkte für die Dosierung gewinnen.

Was nun die Immunisierungsversuche mit Immunserum und Kombination mit darauffolgender Injektion von Milzbrandbacillen anlangt, so dürfte es in dieser Beziehung genügen, die Schlußfolgerungen, welche sich aus der gründlichen Arbeit von Sobernheim ergaben, hier anzuführen[1]): „Alle diese Erfahrungen drängten notwendigerweise zu der Ueberzeugung, daß nicht die Mengen des verimpften Milzbrandserums, auch nicht einfache Unterschiede in der Art und Schnelligkeit der Antitoxinzufuhr oder Antitoxinausscheidung auf den Verlauf der Milzbrandinfektion bei Kaninchen von bestimmendem Einfluß sein konnten, sondern vielmehr andere Ursachen unbekannter Natur, welche, starken individuellen Schwankungen unterliegend, zu so überaus unsicheren Resultaten zu führen pflegen und daran ein exaktes, passives Immunisierungsverfahren scheitern lassen. Es stellt das Kaninchen offenbar eine Tierart dar, welche, bei voller Empfänglichkeit für die Infektion mit virulenten Milzbrandbakterien, der Immunisierung, der aktiven sowohl wie der passiven, erhebliche Hindernisse in den Weg legt. Während jedoch bei vorsichtiger Behandlung eine aktive Immunisierung dieser Tiere ohne Zweifel erreicht werden kann, leistet die passive Immunisierung, welche ihrer Natur nach eigentlich sichere und eindeutige Resultate geben sollte, so Unvollkommenes, daß man wohl den Gedanken aufgeben mußte, auf diesem Wege zu einer befriedigenden Lösung zu gelangen.“ Sehr günstig sind dagegen Sobernheim's Resultate bei der Immunisierung von Schafen. „Während zwei mit normalem Hammelserum vorbehandelte Kontrolltiere der Infektion innerhalb kürzester Frist und unter typischen Erscheinungen schutzlos zum Opfer fielen, vermochten die übrigen 5 Schafe, welche Milzbrandserum in verschiedener Menge, teils durch einmalige, teils durch wiederholte Injektionen, erhalten hatten, die Probeimpfung mit dem gleichen vollvirulenten Materiale unter geringfügigen Lokal- und Allgemeinreaktionen sicher zu überstehen. Auch gegen eine zweite Dosis virulenter Milzbrandkultur erwiesen sich dieselben nach 2—$2^1/_2$ Monaten völlig immun.“

Es ist selbstverständlich, daß auch die Anthrakaseimmunproteïdinschutzimpfung mit der aktiven Immunisierung durch Milzbrandbacillen kombiniert werden kann, wenn sich dies überhaupt als notwendig erweisen sollte.

1) Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskr. Bd. XXXI. p. 103.

Curriculum vitae.

Unterzeichneter wurde am 16. August 1874 in Mariaweiler (Rheinprovinz) geboren, besuchte 1879—1885 die Volksschule in Mariaweiler und Offingen (Schwaben), absolvierte im Sommer 1894 das humanistische Gymnasium in Dillingen a. D., hörte 2 Semester am dortigen Lyceum Philosophie, studierte 5 Jahre in München Medizin und beendete Anfang Februar 1901 dortselbst das Approbationsexamen.

Josef Thönnessen.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena. — 2439

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena. — 2439